

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790984
 研究課題名（和文） 赤外観察カメラシステムを用いた肺癌センチネルリンパ節ナビゲーション手術の開発
 研究課題名（英文） A validation of sentinel node navigation surgery (SNNS) for lung cancer using indocyanine green (ICG) and near infrared spectroscopy
 研究代表者
 一ノ瀬 修二（ICHINOSE SYUJI）
 東京医科大学・医学部・助教
 研究者番号：10424491

研究成果の概要：肺癌が存在する肺葉にインドシアニングリーン（ICG）を局注し、腫瘍からのリンパ節とリンパ流路を赤外観察カメラ（PDE）で蛍光観察した。リアルタイムにリンパ流路を同定することは出来なかったが、22 例中 17 例（77.3%）にセンチネルリンパ節を確認することが出来た。センチネルリンパ節（腫瘍から一番最初に転移するリンパ節）に転移が無くして他部位のリンパ節に転移を認めたものが 2 例存在した。また摘出リンパ節を全て観察することで、各肺葉支配リンパ領域をある程度同定することが可能であった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,600,000	0	2,600,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	180,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：呼吸器外科学、肺癌、センチネルリンパ節、手術

1. 研究開始当初の背景

死亡別悪性腫瘍の第一位である肺癌は現在でも増加傾向にあり、その 5 年生存率は高々 30% 程度と極めて悪い。これから訪れる高齢化社会に向けて更なる増加が予測され、肺癌治療成績の改善のための対策は急務と考える。特に高齢者の場合は呼吸機能が悪い上に、なんらかの合併症を潜在的に有する可能性が高い。それ故に QOL を保ち、より低侵襲で合理的な治療法を模索してゆく必要が

あると思われる。

現在の肺癌における標準治療は手術療法・放射線療法・化学療法であり、その中で手術療法への社会的要望は低侵襲手術へと向いている。これに答えるべく、従来の開胸手術から胸腔鏡下手術への転換、センチネルリンパ節ナビゲーション手術の肺癌への応用は、低侵襲を目指すこれからの呼吸器外科手術の流れである。肺癌外科手術における根治術は肺葉切除あるいは、肺全摘に肺門と縦隔のリンパ節郭清を加えたものである。そして本邦

のデータでは N2 症例 (N1 は肺内および肺門リンパ節で、N2 は縦隔リンパ節のことである。この N2 のレベルのリンパ節に転移を認めると TNM 分類で IIIA 期以上となり予後不良である。) において縦隔リンパ節郭清が予後を改善することは明らかになっている。しかし縦隔のリンパ節郭清に伴う侵襲やその合併症を考慮すると、高齢者肺癌の増加に向けて、より低侵襲で安全かつ合理的な手術方法の確立が望まれている。そんな中で近年、腫瘍からのリンパドレナージを最初に受けるリンパ節 (センチネルリンパ節) に転移が無ければ、それ以遠のリンパ節には転移がないのではないかとという概念に基づいた手術法を Sentinel Node Navigation Surgery (SNNS) と言い、現在種々の癌腫に臨床応用されるに至っている。

センチネルリンパ節の手技を癌治療に応用したのは、1977 年に Chbanas が陰茎癌に応用したのが始まりである。その後 1992 年に Morton らが皮膚黒色腫へ、1993 年に Krag らが乳癌への応用をはじめた。肺癌では 1999 年に Little らが、初めて色素によるセンチネルリンパ節の同定を報告した。術中に 5ml の isosul fun blue dye を腫瘍周囲に分注し、その後肺葉切除に移り、青色に染色されるリンパ節をセンチネルリンパ節と同定した。彼らは 36 例中 17 例 (47%) で同定したと報告している。この報告でセンチネルリンパ節に転移がなければそれ以遠のリンパ節に転移は無かったが、その同定率が 40% と低いと臨床上有用かどうかは不明であった。その原因としては炭粉沈着による青色変化の検出が困難であること、また肺内リンパ節が実質内に存在するために直視不可能であることが上げられた。2000 年に Liptay らが放射性同位元素 (RI) を用いて肺癌におけるセンチネルリンパ節の同定を報告している。彼等は手術中に腫瘍周囲に RI を注入し、45 例中 37 例 (82%) でセンチネルリンパ節を同定している。日本では RI の使用可能な場所が厳しく制限されており、本邦の報告例では予め CT で穿刺部位を計測しておいてから経皮的に局注している。いずれも検出率は 80~90% と総じて高く、信頼性の高い方法であると言える。その他に蛍光ビーズや CT 造影剤、MRI 造影剤を用いたセンチネルリンパ節の同定が行われている。なかでも MRI 用の造影剤をトレーサーとして使用し、これを検出する小型磁気検出器を用いてセンチネルリンパ節同定を行う方法では 31 例中 30 例 (97%) と高率に検出できるという報告がある。RI の使用制限の厳しい本邦においては非常に期待できる方法である。

2. 研究の目的

本研究における目的は 臨床応用が比較的容易である色素法を用い、センチネルリンパ節の同定を試みることである。今回我々は蛍光色素であるインドシアニングリーンと、術中 real time に蛍光観察が可能である赤外線観察カメラシステム (Photodynamic Eye: PDE) を使用することで、飛躍的にその検出率が向上することを期待している。実際にセンチネルリンパ節に転移が無ければ、より以遠のリンパ節に転移は無いのか明らかにする。手術侵襲となるリンパ節郭清の簡略化が可能であるか否か検討する。また、従来の TNM 分類におけるリンパ節 map と、我々が観察するリンパ流と対比して検討する。血管の走行を正確に同定することで、解剖学的に手術困難な場合であっても、その安全性の向上に寄与するものと思われる。また高齢化による第二癌の出現頻度の増加が推測されており、再開胸手術で癒着などにより血管の同定が困難で危険な場合にも、安全かつ正確な手術を navigate してくれる可能性が有る。

長期的な予後を追跡し、その妥当性を検証する。

本研究によってより簡便かつ正確なセンチネルリンパ節の同定が可能となれば、リンパ節郭清の省略により手術時間が短縮され、かつ不要な合併症を回避することが出来る。これは今後の高齢者肺癌時代を迎えるに当たり、低侵襲で安全な手術方法の開発への架け橋となる。更には在院日数の短縮、morbidity の低下により、今後ますます膨らむと予想される医療費の抑制の一助ともなるであろう。

3. 研究の方法

今回我々は、低侵襲で簡便な方法によりセンチネルリンパ節を同定する可能性のある手技の臨床実験を計画した。従来色素法 (インドシアニンググリーン) は安全かつ簡便であるが、その同定率の低さが問題となっていた。それはリンパ節の炭粉沈着により、色調の変化を肉眼で捉えにくいためであった。そこで我々は赤外線観察カメラシステム PDE

(Photodynamic Eye (株) 浜松フォトニクス) を使用して、蛍光画像によりセンチネルリンパ節を同定しようと計画した。PDE は肉眼では見えない近赤外像を観察するカメラ装置で、組織表面下の観察や、組織中の蛍光試薬 (インドシアニンググリーン等) の分布などの確認が可能である。つまり蛍光試薬に励起光源を照射し、その蛍光を高感度カメラで捉えるカメラシステムである。メカニズムとしては、波長 760nm の励起光源 (LED; light emitting diode) をインドシアニンググリーンに照射し、820nm 以下の波長をカットするフィルターを通して CCD カメラにて観察するものである。そうすると励起された ICG が蛍光

画像としてビデオモニターに描出される。

(1)動物研究

生後3ヶ月の雄ブタ(30~40kg)を使用した。ブタの肺は右が4葉(前葉、中葉、後葉、副葉)、左が2葉(前葉、後葉)に分かれている。(副葉は概ね人間で言うところの気管分岐部の下で、左右の肺の間に存在する。)実験方法および手順について以下に記す。

胸骨正中切開にてアプローチし、肺を膨らませたまま目的の肺葉にインドシアニングリーン(ICG)を3ml末梢に局注する。(この時分注せずに、一ヶ所にまとめて注射した。)

photodynamic eyeでリンパ節を30分から1時間ほど観察する。

血管の処理をして心肺を同時に摘出し、リンパ節を可能な限り郭清してマッピングする。

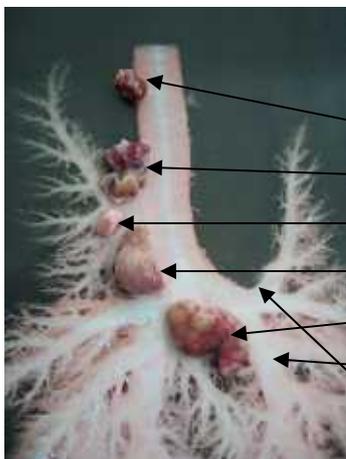
photodynamic eyeで観察して、実際のリンパ流を同定する。

(2)臨床研究

インドシアニンググリーンは臨床において肝機能評価検査や循環機能検査に使用されている薬剤であり、安全性に関しては既に確認されている。実際に肺癌におけるセンチネルリンパ節の同定に使用された報告もある。臨床研究においては上記動物研究同様に、手術中の腫瘍近傍にインドシアニンググリーンを1-5ml程度局注し、そのリンパ管の走行やセンチネルリンパ節をreal timeに蛍光画像で観察する。(勿論院内倫理委員会の承認を得ており、その上で患者様のインフォームドコンセントが得られたものに限定した。)また最後にND2a以上のリンパ節郭清を施行し、全てPDEにて蛍光観察することで肺葉ごとの支配リンパ領域を同定可能か検証した。

4. 研究成果

(1)の動物研究は8頭のブタに対して行った。



リンパ節の部位

- 気管周囲
- 前葉気管支上
- 前葉気管支
- 葉気管支間
- 気管分岐部
- 左後葉気管支
- 左前葉気管支上

(図1: 気管の写真の上に摘出したリンパ節を置いて撮影した。)

PDEで蛍光画像として捉える事が出来たリンパ節に『○』を、蛍光を捉えることが出来なかったリンパ節に『×』を記入した。

(表1)

蛍光が得られたリンパ節番号

局注肺葉

1、右前葉			×
2、右後葉	×		
3、右後葉	×	×	
4、右前葉			×
5、左後葉			
6、左前葉		×	×
7、左前葉	×		×
8、左後葉	×		×

【結果】

ブタの前葉は人間の上葉に相当するものでは気管分岐部リンパ節へのリンパ流が無かった。また前中葉気管支間リンパ節は一方で蛍光が得られ、一方は蛍光が得られなかった。これは人間で言うところの#11sに相当し、リンパ流があるものと無いものの双方が存在することが示唆された。つまり人間の右上葉発生肺癌の場合、#11s(葉気管支間リンパ節)や#10(主気管支リンパ節)へのリンパ節に転移が無ければ、気管分岐部リンパ節の郭清を省略出来るとする考えに合致する結果であった。しかしながらブタの前葉は人間の上葉と違い、気管から直接分岐しており、気管分岐部はその位置より随分末梢に存在している。よって人間の場合においては、必ずしも一致しないと考えられた。

症例の右後葉に局注して30分後の観察で、気管分岐部リンパ節 中後葉気管支リンパ節 前葉気管支上リンパ節の順に染まっていったと考えられた。しかしながら症例では、局注1時間後にも係わらず前葉気管支上リンパ節は蛍光を発していなかった。これは症例では比較的大きいリンパ節が点在していたために、リンパ流路が遮断されたか、或いはインドシアニンググリーンがリンパ節に吸収されてしまった可能性が示唆された。

左前葉にICGを局注したものでは、気管分岐部リンパ節での蛍光を認めなかった。これは右前葉同様に、左上葉発生の場合においても気管分岐部リンパ節の郭清は省略できる可能性が示唆された。

左後葉においては気管分岐部リンパ節および左前葉気管支上リンパ節で蛍光が得

られた。流れとしては後葉気管支リンパ節 気管分岐部リンパ節、前葉気管支上リンパ節と考えられた。ブタは解剖学的に前葉と後葉の分岐が非常に近いため、上記三つのリンパ節はそれぞれ非常に近接しており、必ずしも人間には合致しないと思われる。

摘出リンパ節を周囲の脂肪組織と一緒に観察すると、右後葉に局注した場合において、左主気管支リンパ節が蛍光を発した。しかしこのリンパ節断面に蛍光はなく、それを覆っている脂肪組織および結合組織のみの蛍光であった。その理由として、ブタは人間と解剖が異なり、右後葉から左主気管支へのリンパ流路が存在する。胸膜に存在する微小血管を通じ、リンパ節周囲の脂肪組織および結合組織のみに達した、等が考えられた。

【考察】

左右の前葉からは気管分岐部リンパ節へのリンパ流は無いものと考えられる。しかし前葉気管支周囲のリンパ節に転移があった場合は、リンパ流の遮断による気管分岐部リンパ節方向への back flow が考えられる。よって前葉気管支周囲のリンパ節にセンチネルリンパ節が存在する可能性が示唆された。即ち前葉気管支周囲のセンチネルリンパ節に転移が無ければ、気管分岐部リンパ節の郭清は省略出来るとする理論が成り立つものと思われた。

経時的にリンパ節を観察していったが、解剖学的にリンパ節の位置が深いなどの理由により、どのリンパ節がより早く蛍光を発したかは判別困難であった。今回の実験では気管リンパ節が前葉気管支リンパ節を経由しているのか、それとも前葉から直接の流路によるものなのか葉解らなかった。

左右の後葉は全例気管分岐部リンパ節での蛍光を認めたが、より中枢のリンパ節への流路はブタの解剖学的な問題もあり不明であった。

(2)以上の動物研究の結果を踏まえて臨床研究を実施した。

【症例背景】

症例：22例（男性19、女性3）
 年齢：平均66.5歳（48-79）
 術式：右上葉切除11、右下葉切除4、左上葉切除3、左下葉切除2、左肺全摘2
 腫瘍径：14.4mm（15-120）
 組織型：腺癌16、扁平上皮癌3、大細胞癌1、癌肉腫1、多形癌1
 臨床病期：IA/4、IB/11、IIA/1、IIB/1

IIIA/4、IIIB/0、IV/1
 病理病期：IA/3、IB/9、IIA/1、IIB/2
 IIIA/5、IIIB/1、IV/1
 リンパ管浸潤：ly0/4、ly1/10、ly2/8
 静脈浸潤：v0/9、v1/3、v2/10
 術前CEA：14.4 μg/ml（0.2-102.1）

【結果】

（表2）術式別の転移LNとセンチネルLN

	術式	転移LN	センチネルLN
1	右上葉切除	-	11s, 12u
2	右上葉切除	2, 12u	上縦隔, 12u
3	右上葉切除	-	12u
4	右上葉切除	2, 3, 4, 12u, 13	11s, 12u
5	右上葉切除	10, 14	-
6	右上葉切除	-	12u
7	右上葉切除	-	11s
8	右上葉切除	-	11s
9	右上葉切除	-	3
10	右上葉切除	-	-
11	右上葉切除	3, 4, 13	11s, 12u

（表3）リンパ節のPDEによる蛍光観察

	#1	#2	#3	#4	#7	#10	#11s	#12u
1					x	x		
2					x	x	x	
3					x			
4					x	x		
5					x	x		
6					x	x		
7	x			x	x	x		
8					x	x		
9					x		x	
10	x		x	x	x	x		
11		x		x				

：蛍光を認めたリンパ節
 ：蛍光は認めるが不明瞭なリンパ節
 x：蛍光を認めなかったリンパ節

(表4) 術式別の転移LNとセンチネルLN

	術式	転移LN	センチネルLN
12	左上葉切除	-	12u
13	左上葉切除	5, 12u	5, 12u
14	左上葉切除	-	12u
15	左肺全摘	12u	11
16	左肺全摘	-	11, 12u, 5, 6
17	左下葉切除	9, 11, 12l	-
18	左下葉切除	-	-

(表5) リンパ節のPDEによる蛍光観察

	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12u	#12l
12							x			
13				x			x			
14								x		
15				x		x				
16				x						
17		x	x	x	x	x	x	x		
18				x		x	x			

(表6) 術式別の転移LNとセンチネルLN

	術式	転移LN	センチネルLN
19	右下葉切除	-	12l
20	右下葉切除	-	-
21	右下葉切除	12l	11i, 12l
22	右下葉切除	-	11i, 12l

(表7) リンパ節のPDEによる蛍光観察

	#1	#2	#3	#4	#7	#8	#9	#10	#11s	#11i	#12l
19	x	x	x		x		x	x		x	
20	x		x		x			x	x		
21							x				
22						x					

センチネルリンパ節を22例中の17例(77.3%)に確認する事が出来た。しかしリアルタイムにリンパ流路を観察する事は出来なかった。センチネルリンパ節が転移陰性で、他部位のリンパ節に転移を認めたものが2例あった。1例は右上葉切除を施行したもので、センチネルリンパ節を#11sと#12u

と判断したが、#3、#4、#13にそれぞれ転移を認めた。これはセンチネルリンパ節より末梢のリンパ節に転移があったため、或いは腫瘍が大きいためにリンパ流路が変更された為なのかもしれない。また肺実質に覆われている#13をセンチネルリンパ節として同定出来ていれば、SNNSの概念に合致するもと考えられる。もう1例の左肺全摘した症例は、腫瘍と#12uが一塊になっており、さらに術前化学療法を施行していた事で腫瘍周囲や肺門のリンパ流路が変更されたことが原因かもしれない。また肺全摘の場合は上下葉間を形成していないため、#12uを同定することが困難だったことも一因と考えられた。

(表8)

切除葉	転移LN	センチネルLN	臨床病期	手術病期	病理病期	腫瘍最大径
右上葉切除	3, 4, 13	11s, 12u	IB	IB	IIIA	50mm
左肺全摘	12u	11	IIB	IIB	IIA	25mm

【結語】

蛍光法による肺癌センチネルリンパ節ナビゲーション手術は、適応する際に症例を選択する必要があると思われた。やはり術前療法が施行されたものであったり、腫瘍が大きいもので周辺のリンパ管や血管に侵襲を伴うことが予想される症例では避けたほうがよいのかもしれない。つまり腫瘍による圧排や侵襲の可能性の低い、IA期や腫瘍径2cm以下のものが良い適応なのかもしれない。実際に同条件下で行われているアイソトープや色素法では、良好な結果が得られているという報告もある。

原発巣が上葉発生(上大区域)の場合、#7(気管分岐部)へ直接流れるリンパ流路は認めなかった。つまりセンチネルリンパ節が転移陰性であれば、同部位の郭清の省略は妥当だと思われた。また左肺全摘を施行した2例はいずれも左上大区域に原発巣が存在しており、#7に蛍光を認めなかった。一般的に腫瘍が左舌区に存在する場合、#7へ転移する可能性が示唆されている。今回解析したもので舌区に存在したものは症例13の1例のみであったが、#7の蛍光は認めなかった。つまり上葉原発の場合に下縦隔の蛍光がなければ、同部へのリンパ流路がないものと判断し、郭清を省略することが可能かもしれない。

今後はICGの投与方法、観察方法、観察器機の改良などが必要と思われた。まず

腫瘍が大きいと ICG を局注する位置決定が難しく、腫瘍からのリンパ流路を正確に反映できているか不明であった。また観察器機の PDE の先端が 8cm とやや大きいため、胸腔内の観察に制限が出てきてしまう事も問題のひとつと思われた。今後も更なるデータの集積および解析を行い、より精度の高い低侵襲手術の開発を模索していきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計4件)

一ノ瀬修二、赤外観察カメラを使用した肺癌センチネルリンパ節の検出に関する研究、第29回日本レーザー医学会、平成20年11月16日、東京(八王子)

一ノ瀬修二、肺癌外科手術においてセンチネルリンパ節は存在するのか?、第49回日本肺癌学会総会、平成20年11月13日、福岡(小倉)

Shuji Ichinose, Animal study on sentinel node navigation surgery (SNNS) for lung cancer using indocyanine green (ICG) and near infrared spectroscopy., The 13th World Congress on Advances in Oncology, 9th October 2008, Greece (Crete)

Shuji Ichinose, Is Npe-6 PDT for the recurrent lung cancer after Brachytherapy dangerous?, 17th International Society Laser Surgery and medicine (ISLSM), 10th November 2007, Firenze (Italy)

6. 研究組織

(1)研究代表者

一ノ瀬 修二 (ICHINOSE SHUJI)
東京医科大学・医学部・助教
研究者番号：10424491

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

